

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents
United States Patent and Trademark
Office
Box PCT
Washington, D.C.20231
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 23 August 2000 (23.08.00)	
International application No. PCT/JP00/00068	Applicant's or agent's file reference 4437
International filing date (day/month/year) 11 January 2000 (11.01.00)	Priority date (day/month/year) 11 January 1999 (11.01.99)
Applicant KITAMURA, Shuji et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:
08 August 2000 (08.08.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was

☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Alejandro HENNING
Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Telephone No.: (41-22) 338.83.38

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/00068

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl.⁷ A23C9/123, A23C20/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.⁷ A23C9/12~9/15, A23C20/00~20/02

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
BIOSIS (DIALOG)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	EP, 583074, A1 (CALPIS FOOD IND CO LTD), 16 February, 1994 (16.02.94) & JP, 6-40944, A & US, 5449661, A & DE, 69326513, E & CN, 1090201, A	1-9
A	JP, 3-120225, A (AJINOMOTO CO., INC.), 22 May, 1991 (22.05.91) (Family: none)	1-9
A	JP, 7-75521, A (Asahi Chemical Industry Co., Ltd.), 20 March, 1995 (20.03.95) (Family: none)	1-9

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier document but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
27 March, 2000 (27.03.00)

Date of mailing of the international search report
04 April, 2000 (04.04.00)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JPO0/00068

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
Int. Cl⁷ A23C9/123, A23C20/02

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A23C9/12~9/15, A23C20/00~20/02

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
BIOSIS (DIALOG)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	EP, 583074, A1 (CALPIS FOOD IND CO LTD) 16. 2月. 1994 (16. 02. 94) & JP, 6-40944, A & US, 5449661, A & DE, 69326513, E & C N, 1090201, A	1-9
A	JP, 3-120225, A (味の素株式会社) 22. 5月. 1991 (22. 05. 91) (ファミリーなし)	1-9
A	JP, 7-75521, A (旭化成株式会社) 20. 3月. 1995 (20. 03. 95) (ファミリーなし)	1-9

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

27. 03. 00

国際調査報告の発送日

04.04.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

鈴木 恵理子



4N

8114

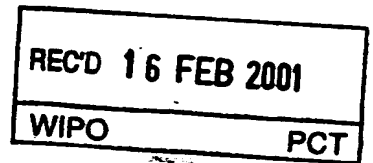
電話番号 03-3581-1101 内線 3448

THIS PAGE BLANK (10070)

PCT

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)
[PCT36条及びPCT規則70]



出願人又は代理人 の書類記号 4437	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JPO0/00068	国際出願日 (日.月.年) 11.01.00	優先日 (日.月.年) 11.01.99
国際特許分類(IPC) Int. Cl ⁷ A23C91/123, A23C20/02		
出願人(氏名又は名称) カルビス株式会社		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条(PCT36条)の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 3 ページからなる。 <input type="checkbox"/> この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。 (PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照) この附属書類は、全部で ページである。
3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。 I <input checked="" type="checkbox"/> 国際予備審査報告の基礎 II <input type="checkbox"/> 優先権 III <input type="checkbox"/> 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成 IV <input type="checkbox"/> 発明の単一性の欠如 V <input checked="" type="checkbox"/> PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明 VI <input type="checkbox"/> ある種の引用文献 VII <input type="checkbox"/> 国際出願の不備 VIII <input type="checkbox"/> 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 08.08.00	国際予備審査報告を作成した日 31.01.01	
名称及びあて先 日本国特許庁(IPEA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官(権限のある職員) 鈴木 恵理子 電話番号 03-3581-1101 内線 3448	4N 8114

THIS PAGE BLANK (USPTO)

I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT 14条)の規定に基づく命令に
応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- ☐ 明細書 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
明細書 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 請求の範囲 第 _____ 項、 出願時に提出されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 PCT 19条の規定に基づき補正されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 図面 第 _____ ページ/図、 出願時に提出されたもの
図面 第 _____ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
図面 第 _____ ページ/図、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならない、本報告に添付する。)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性(N)

請求の範囲
請求の範囲

1-9

有
無

進歩性(IS)

請求の範囲
請求の範囲

1-9

有
無

産業上の利用可能性(IA)

請求の範囲
請求の範囲

1-9

有
無

2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

請求の範囲1-9について

国際調査報告で引用した文献1(EP, 583074, A1(CALPIS FOOD IND CO LTD) 16. 2月. 1994(16. 02. 94))には、発酵乳からアンジオテンシン変換酵素阻害剤を製造する方法について記載されているものの、請求の範囲1-9の発明の特徴である、アンジオテンシン変換酵素阻害剤を含有する発酵乳の効率の良い製造法については、記載も示唆もない。

したがって、請求の範囲1-9の発明は、新規性と進歩性を有する。

THIS PAGE BLANK (USPTO)

E P



P C T

国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)
〔PCT18条、PCT規則43、44〕

出願人又は代理人 の書類記号 4437	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220)及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP00/00068	国際出願日 (日.月.年) 11.01.00	優先日 (日.月.年) 11.01.99
出願人(氏名又は名称) カルピス株式会社		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 2 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 _____ 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

THIS PAGE BLANK (USPTO)

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. C1' A23C9/123, A23C20/02

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. C1' A23C9/12~9/15, A23C20/00~20/02

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

BIOSIS (DIALOG)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	EP, 583074, A1 (CALPIS FOOD IND CO LTD) 16. 2月. 1994 (16. 02. 94) & JP, 6-40944, A & US, 5449661, A & DE, 69326513, E & C N, 1090201, A	1-9
A	JP, 3-120225, A (味の素株式会社) 22. 5月. 1991 (22. 05. 91) (ファミリーなし)	1-9
A	JP, 7-75521, A (旭化成株式会社) 20. 3月. 1995 (20. 03. 95) (ファミリーなし)	1-9

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

27. 03. 00

国際調査報告の発送日

04.04.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

鈴木 恵理子



4N

8114

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

THIS PAGE BLANK (USPTO)



(51) 国際特許分類7 A23C 9/123, 20/02	A1	(11) 国際公開番号 WO00/41572 (43) 国際公開日 2000年7月20日(20.07.00)
(21) 国際出願番号 PCT/JP00/00068 (22) 国際出願日 2000年1月11日(11.01.00) (30) 優先権データ 特願平11/3946 1999年1月11日(11.01.99) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) カルピス株式会社(CALPIS CO., LTD.)(JP/JP) 〒150-0021 東京都渋谷区恵比寿西2丁目20番3号 Tokyo, (JP) (72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてののみ) 北村修二(KITAMURA, Shuji)(JP/JP) 〒213-0023 神奈川県川崎市高津区子母口426-1 ライオンズガーデン武蔵中原309 Kanagawa, (JP) 上山 崇(UEYAMA, Takashi)(JP/JP) 〒134-0085 東京都江戸川区南葛西六丁目14-6 グレースシア小泉2-302 Tokyo, (JP) (74) 代理人 弁理士 酒井 一(SAKAI, Hajime) 〒102-0083 東京都千代田区麹町5丁目7番地 秀和紀尾井町TBRビル Tokyo, (JP)		(81) 指定国 AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM) 添付公開書類 国際調査報告書
(54)Title: PROCESS FOR PRODUCING FERMENTED MILK CONTAINING ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME INHIBITORY PEPTIDE AND PROCESS FOR PRODUCING MILK SERUM (54)発明の名称 アンジオテンシン変換酵素阻害ヘプチド含有発酵乳の製造法及び乳清の製造法 (57) Abstract Processes for producing fermented milk and milk serum whereby fermented milk and milk serum containing an ACEI peptide at a high content, which have high safety and are usable as drugs, funtional foods, health foods, etc., can be efficiently obtained at a high yield. A process for preparing fermented milk containing curd pieces and milk serum containing an angiotensin converting enzyme inhibitory peptide which involves the step of mixing and stirring a milk-containing material with lactic acid bacteria to give a mixed material, and the step of fermenting the mixed material under stirring so as to form the milk serum containing the angiotensin converting enzyme inhibitory peptide; and a process for producing milk serum further involving the step of centrifuging and/or compression-filtering the fermented milk obtained above to thereby separate and collect the milk serum.		

安全性が高く、医薬品、機能性食品、健康食品等として使用できるACEIペプチドを高い割合で含む発酵乳及び乳清を高回収率で効率的に得ることができる発酵乳及び乳清の製造法であって、乳酸菌と乳を含む原料とを混合攪拌し混合原料を得る工程及び、カード細片と、アンジオテンシン変換酵素阻害ペプチドを含む乳清とを生成させるように前記混合原料を攪拌下で発酵させる工程を含み、カード細片と、アンジオテンシン変換酵素阻害ペプチドを含む乳清とを含有する発酵乳を調製する方法、並びに得られた発酵乳を遠心分離及び／又は圧搾濾過し、乳清を分離回収する工程を更に含む乳清の製造法。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE	アラブ首長国連邦	DM	ドミニカ	KZ	カザフスタン	RU	ロシア
AG	アンティグア・バーブーダ	DZ	アルジェリア	LC	セントルシア	SD	スーダン
AL	アルバニア	EE	エストニア	LI	リヒテンシュタイン	SE	スウェーデン
AM	アルメニア	ES	スペイン	LK	スリ・ランカ	SG	シンガポール
AT	オーストリア	FI	フィンランド	LR	リベリア	SI	スロヴェニア
AU	オーストラリア	FR	フランス	LS	レソト	SK	スロヴァキア
AZ	アゼルバイジャン	GA	ガボン	LT	リトアニア	SL	シエラ・レオネ
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GB	英国	LU	ルクセンブルグ	SN	セネガル
BB	バルバドス	GD	グレナダ	LV	ラトヴィア	SZ	スワジランド
BE	ベルギー	GE	グルジア	MA	モロッコ	TD	チャード
BF	ブルキナ・ファソ	GH	ガーナ	MC	モナコ	TG	トーゴ
BG	ブルガリア	GM	ガンビア	MD	モルドヴァ	TJ	タジキスタン
HJ	ベナン	GN	ギニア	MG	マダガスカル	TM	トルクメニスタン
BR	ブラジル	GR	ギリシャ	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TR	トルコ
BY	ベラルーシ	GW	ギニア・ビサオ		共和国	TT	トリニダード・トバゴ
CA	カナダ	HR	クロアチア	ML	マリ	TZ	タンザニア
CF	中央アフリカ	HU	ハンガリー	MN	モンゴル	UA	ウクライナ
CG	コンゴ	ID	インドネシア	MR	モリタニア	UG	ウガンダ
CH	スイス	IE	アイルランド	MW	マラウイ	US	米国
CI	コートジボアール	IL	イスラエル	MX	メキシコ	UZ	ウズベキスタン
CM	カメルーン	IN	インド	MZ	モザンビーク	VN	ベトナム
CN	中国	IS	アイスランド	NE	ニジェール	YU	ユーゴスラヴィア
CR	コスタ・リカ	IT	イタリア	NL	オランダ	ZA	南アフリカ共和国
CU	キューバ	JP	日本	NO	ノルウェー	ZW	ジンバブエ
CY	キプロス	KE	ケニア	NZ	ニュージーランド		
CZ	チェッコ	KG	キルギスタン	PL	ポーランド		
DE	ドイツ	KP	北朝鮮	PT	ポルトガル		
DK	デンマーク	KR	韓国	RO	ルーマニア		

1

明細書

アンジオテンシン変換酵素阻害ペプチド含有発酵乳の製造法及び乳清の製造法
技術分野

本発明は、Val Pro Pro 及び／又は Ile Pro Pro 等のアンジオテンシン変換酵素阻害ペプチドを含有する発酵乳を効率良く製造できるアンジオテンシン変換酵素阻害ペプチド含有発酵乳の製造法、及びアンジオテンシン変換酵素阻害ペプチドを含有する乳清を効率良く分離製造し得るアンジオテンシン変換酵素阻害ペプチド含有乳清の製造法に関する。

背景技術

アンジオテンシン変換酵素 (Angiotensin Converting Enzyme, 以下 “ACE” と称する) は、主に肺や血管内皮細胞に存在する。この ACE は、レニンにより分解されたアンジオテンシン I (Asp Arg Val Tyr Ile His Pro Phe His Pro Phe His Leu) に作用して C 末端よりジペプチド (His Leu) を遊離させ、血管壁平滑筋を収縮させる作用を示すと共に、強力な血圧上昇作用を有するアンジオテンシン II を産生する。また、この酵素は、降圧作用を有するブラジキニンを分解し、不活性化する作用を併せ持つ。このような ACE は、昇圧ペプチド (アンジオテンシン II) を産生すると共に、降圧ペプチド (ブラジキニン) を不活性化するので、結果として血圧を上昇させる作用を示す。従って、ACE の活性を阻害するアンジオテンシン変換酵素阻害剤 (Angiotensin Converting Enzyme Inhibiter, 以下 “ACE I” と称する) は、血圧上昇を抑制する作用を示す。

ACE I としては、Val Pro Pro を構成単位として有するアミノ酸残基数が 3 ～ 10 個のペプチド (特許第 2 7 8 2 1 4 2 号公報) 及び Ile Pro Pro のトリペプチド (特開平 3 - 1 2 0 2 2 5 号公報) 等が知られている。更に、乳カゼインの乳酸菌産生タンパク質分解酵素で分解されることによって生成し、発酵乳の乳清に溶解して存在する ACE I 活性を持つペプチドも知られている (J. Dairy Sci. 78, 6, p1253-1257, 1995)。

このような ACE I としてのペプチドを摂取する場合、例えば、Val Pro Pro 及び／又は Ile Pro Pro を含む発酵乳をそのままの形態で摂取することができる

。しかし、発酵乳中に存在するACE Iとしてのペプチドの濃度及び有効量を考慮した場合、ある程度以上の量の発酵乳を摂取することが必要である。このためACE Iを多く含む発酵乳や乳清の製造法の開発が望まれている。

Val Pro Pro及び／又はIle Pro Pro等のACE Iは、安全性が高く医薬品、機能性食品、健康食品等に利用できることが知られている。これらVal Pro Pro及び／又はIle Pro Proの製造法としては、これらを構成単位として含むペプチド及び／又は蛋白質を含む培地において乳酸菌を培養し、発酵乳を得、得られた発酵乳を精製する方法(特許第2782153号公報)が提案されている。

従来の乳酸発酵の方法は、例えば、ヨーグルト等の代表的な発酵乳製品の製造の場合、スタータ添加後、均一攪拌し、次いで、製品全体をカード状とするために、静置状態で乳酸発酵が行なわれている。このような静置状態で乳酸発酵が行なわれる要因は、乳酸発酵時の乳酸菌の増殖によりpHが低下しつつある状態において、発酵液に攪拌、振盪等の振動が加えられると、得られる発酵乳製品において、離水及びテクスチャー不良等の問題が生じるためであると考えられる。また、乳酸発酵に用いる乳酸菌は、通性嫌気性細菌に属するために、しばしば酸素により生育が阻害される。従って、従来、静置状態で乳酸発酵させる必要がある工程において、攪拌培養することは全く考慮されていないのが実状である。一方、チーズ製造の場合も、スタータ添加後、均一攪拌し、次いで、静置状態で発酵が行なわれた後、静置状態でレンネットを作用させてカゼインを凝固させ、その後、攪拌や圧搾を行なって乳清を排出する方法が一般的である。

ところで、発酵乳から乳清を精製し、この乳清に含まれる有効成分を濃縮するには、乳清の回収率向上策が工業化のために必要である。従来、発酵乳からカード画分を回収することを目的とする方法は多数提案されているが、発酵乳から乳清を効率的に分離する方法については、これまでほとんど行なわれていないのが現状である。

発明の開示

本発明の目的は、安全性が高く、医薬品、機能性食品、健康食品等として使用できるACE Iペプチドを高い割合で含む発酵乳及び乳清を高回収率で効率的に

得ることができるACEIペプチド含有発酵乳及び乳清の製造法を提供することにある。

本発明によれば、(A)乳酸菌と乳を含む原料とを混合攪拌し混合原料を得る工程と、(B-1)カード細片と、ACEIペプチドを含む乳清とを生成させるように前記混合原料を攪拌下で発酵させる工程とを含み、カード細片と、ACEIペプチドを含む乳清とを含有する発酵乳を調製するACEIペプチド含有発酵乳の製造法が提供される。

また本発明によれば、(A)乳酸菌と乳を含む原料とを混合攪拌し混合原料を得る工程と、(B-1)カード細片と、ACEIペプチドを含む乳清とを生成させるように前記混合原料を攪拌下で発酵させる工程と、(B-2)前記混合原料を静置下で発酵させる工程とを含み、カード細片と、ACEIペプチドを含む乳清とを含有する発酵乳を調製するACEIペプチド含有発酵乳の製造法が提供される。

更に本発明によれば、(A)乳酸菌と乳を含む原料とを混合攪拌し混合原料を得る工程と、(B-1)カード細片と、ACEIペプチドを含む乳清とを生成させるように前記混合原料を攪拌下で発酵させる工程とを含み、カード細片と、ACEIペプチドを含む乳清とを含有する発酵乳を得た後、得られた発酵乳を遠心分離及び圧搾濾過の少なくとも一方の操作を行なって乳清を分離回収するACEIペプチド含有乳清の製造法が提供される。

更にまた本発明によれば、(A)乳酸菌と乳を含む原料とを混合攪拌し混合原料を得る工程と、(B-1)カード細片と、ACEIペプチドを含む乳清とを生成させるように前記混合原料を攪拌下で発酵させる工程と、(B-2)前記混合原料を静置下で発酵させる工程とを含み、カード細片と、ACEIペプチドを含む乳清とを含有する発酵乳を得た後、得られた発酵乳を遠心分離及び圧搾濾過の少なくとも一方の操作を行なって乳清を分離回収するACEIペプチド含有乳清の製造法が提供される。

発明の好ましい実施の態様

以下本発明を更に詳細に説明する。

本発明の製造法では、(A)乳酸菌と乳を含む原料とを混合攪拌し混合原料を得

る工程を含む。

原料として用いる乳としては、例えば、牛乳、山羊乳、羊乳等の獣乳；豆乳等の植物乳；これらの加工乳である脱脂乳、還元乳、粉乳、コンデンスミルク等が用いられる。使用に際しては混合物として用いることができる。これらの乳には、Val Pro Pro及び／又はIle Pro Proを構成単位として含むペプチド及び蛋白質が含まれる。

乳の固形分濃度は特に限定されないが、例えば、脱脂乳を用いる場合の無脂乳固形分濃度は、9質量％程度が発酵乳の生産には最も良く用いられる。しかし、設備あたりの生産量を考慮した場合、無脂乳固形分濃度をある程度高くしたほうが生産コストを抑えることができる。通常の静置下のみにおける乳酸発酵において、無脂乳固形分濃度を13質量％以上として乳酸発酵を行なうと、得られる発酵乳の粘度が高くなり、乳清を分離することが困難となるため、無脂乳固形分濃度を高くすることができない。これに対して、本発明の方法では、後述する攪拌をとまなう発酵を行なうため、無脂乳固形分濃度を15質量％以上にする場合にも、低い粘度が保持されて容易に、且つ効率的に乳清を得ることができる。

本発明の製造法では、本発明の目的を損ねない範囲で、乳以外の他の原料を含有させることも可能である。他の原料は、通常、発酵乳の製造に使用できる公知の他の原料から所望の目的に応じて適宜選択することができる。

本発明の製造法に用いる乳酸菌としては、ラクトバチルス属の乳酸菌等が好ましい。このような乳酸菌としては、例えば、ラクトバチルス・ヘルベチカス (*Lactobacillus helveticus*)、ラクトバチルス・デルブルキ・サブスピーシーズ・ブルガリカス (*Lactobacillus delbruekii* subsp. *bulgaricus*)、ラクトバチルス・アシドフィラス (*Lactobacillus acidophilus*) 等が挙げられる。特に、ラクトバチルス・ヘルベチカス CM4 株 (工業技術院生命工学工業技術研究所 寄託番号: FERM BP-6060, 寄託日 1997.8.15) (以下、ラクトバチルス・ヘルベチカス CM4 株と称す) が、ACE I ペプチドの高生産乳酸菌として好適である。このラクトバチルス・ヘルベチカス CM4 株は、特許手続上の微生物の寄託の国際的承認に関するブタペスト条約に上記寄託番号で登録されており、

この株が特許されることにより、第三者が入手できない制限が全て取り除かれる。

本発明において乳酸菌は、あらかじめ前培養しておいた十分に活性の高いスターターとして用いることが好ましい。初発菌数は、好ましくは $10^5 \sim 10^7$ 個／ml 程度である。

本発明においては、前記混合原料に本発明の目的を損ねない範囲で他の菌を含有させることもできる。例えば、得られる発酵乳や乳清を、機能性食品、健康食品等として利用する場合に、風味を良好にし、嗜好性を良好とするために酵母を併用することができる。

酵母の菌種は特に限定されないが、例えば、サッカロマイセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) 等のサッカロマイセス属酵母等が好ましく挙げられる。酵母の含有割合は、その目的に応じて適宜選択することができる。

本発明の製造法において、前記混合原料を得る際の混合攪拌は、乳酸菌と原料とが均一に混ざるように公知の方法等で行うことができる。なお、この工程(A)は通常行われるものであり、後述する発酵の工程とは区別されている。

本発明の製造法では、次いで、(B-1)カード細片と、ACE I ペプチドを含む乳清とを生成させるように前記混合原料を攪拌下で発酵させる工程、若しくは前記(B-1)工程と、(B-2)前記混合原料を静置下で発酵させる工程とを含み、カード細片と、ACE I ペプチドを含む乳清とを含有する発酵乳を調製する。

これらの工程は、前記混合原料を乳酸発酵させる工程であり、従来における乳酸発酵は、混合原料全体がカード状等の塊となるようにするために静置下で行われていた。

本発明の製造法において、乳酸発酵させる際の発酵条件及び発酵終了酸度は、乳酸菌種、菌株及び乳固形分含有量により最良の条件が異なるので、ACE I ペプチドの生成量により至適条件を適宜設定することができる。例えば、ラクトバチルス・ヘルベチカス CM4 株を用いる場合の至適温度は $25 \sim 40^\circ\text{C}$ 、発酵時間は $12 \sim 40$ 時間程度である。発酵終了酸度は、乳酸酸度として $1.5 \sim 3$ 質量%程度が好ましい。

前記工程(B-1)においては、前記発酵を攪拌下で行なう。乳酸発酵を工程(B-1)のみで行う場合には、実質的に連続的に攪拌しながら発酵を行なう。一方、工程(B-1)及び工程(B-2)の両方を行う場合には、各工程を少なくとも1回行えばよく、好ましくは複数回に分けて行えばよい。また、その順序は特に限定されない。攪拌の条件、並びに攪拌と静置の条件は、この発酵工程によって、多数のカード細片とACEIペプチドを含む乳清とを生成させる条件であれば適宜決定することができる。好ましくは、この発酵工程により得られるカード細片とACEIペプチドを含む乳清とを含む混合物の粘度が、20cP以下、特に、10cP以下となるような条件を設定すればよい。この際、粘度の下限値は特に限定されないが、通常2.0cP程度である。このようなカードと乳清とを生成させる条件は、例えば、発酵によるpH低下の途上において、軟らかなカード形成が開始する約pH5から、カゼイン等電点であるpH4.7~4.6の間に攪拌が行われるよう条件を設定することが好ましい。

従来の静置培養のみによる発酵においては、培養槽(タンク)内に生成するカードがタンク内全体に実質的にゲル状組織が連続状態にある、プレーンヨーグルト状のカードとして生成される。従って、このような発酵乳カードを、発酵後に攪拌してカード片としても上述のような低い粘度の発酵乳とすることはできない。一方、上記工程(B-1)を必須とする本発明の製造法では、発酵によって、ゲル状組織が連続状態にある1つの塊としてのカードが形成されることはなく、カード細片が乳清中に浮遊、分散若しくは沈降した状態の発酵乳が得られる。カード細片の大きさは各種条件及び乳酸菌の種類等により異なるが、例えば、ラクトバチルス・ヘルベティカスCM4株を用いて、攪拌しながらの発酵と静置発酵とを繰り返し行った場合、3 μ m~5mm程度となる。

本発明において前記発酵は、乳酸菌が通性嫌気性細菌に属するため、その生育が過剰な酸素により阻害されないようにすることが好ましい。従って、前記発酵時の攪拌は、発酵液中に気泡が巻き込まれて溶存酸素量が上昇することを抑制する条件で行なうことが好ましい。例えば、発酵時の攪拌を発酵の間連続的に行なう場合には、発酵液が緩やかに流動混合するような低速度攪拌が好ましい。具体

的には、攪拌速度 1 ～ 5 0 r p m 程度で行なうことができる。一方、前記発酵を、攪拌発酵と静置発酵との両者を組合せて行なう場合には、即ち、前記工程 (B-1) と工程 (B-2) とを組合せて行なう場合には、攪拌が短期間において激しい条件で行なわれて気泡が発酵液中に巻き込まれても、溶存酸素量の上昇が抑制される条件であれば良い。

上記攪拌条件を適宜選択すれば、驚くべきことに、本発明における上記発酵時における混合攪拌を行なっても、後述する実施例に示すように静置発酵のみで行なった場合と同等若しくはそれ以上の高い割合で A C E I ペプチドが含まれる発酵乳が得られる。

本発明の製造法では、粘度が低く作業性に優れた、多数のカード細片と乳清とを含む発酵乳を効率的に得ることができ、また、このような発酵乳から後述する方法により、効率的に乳清を得ることができる。

本発明の製造法では、前記発酵終了後、通常行われる攪拌を行ってもよい。特に、前記発酵における発酵終了時に、(B-2) 工程の静置下で発酵させた場合には、発酵終了後に攪拌することが好ましい。

本発明の A C E I ペプチド含有乳清の製造法では、前記発酵乳を得る工程の後、得られた発酵乳を遠心分離及び／又は圧搾濾過し、乳清を分離回収する工程を含む。

発酵乳を遠心分離するには、遠心分離機を用いて行なうことができる。遠心分離の条件は、例えば、回転数 2 0 0 0 ～ 1 0 0 0 0 r p m 程度において、連続遠心分離することが好ましい。一方、圧搾濾過は、圧搾濾過機を用いて行なうことができる。圧搾濾過の条件は、2 ～ 8 k g / c m² の加圧条件とするのが好ましい。

本発明の製造法により得られる A C E I ペプチド含有発酵乳又は乳清は、発酵乳飲料又は乳清飲料として用いることができる。また、A C E I ペプチド含有乳清を、脱酸、脱塩、濃縮、単離等の処理工程を経た後に液状製品として、若しくは乾燥・粉末化して顆粒状、錠剤等の製品として用いることができる。

本発明の A C E I ペプチド含有発酵乳の製造法では、攪拌下における発酵を伴

うので、ACE I ペプチドを高い割合で含む発酵乳を効率良く得ることができる。また、本発明のACE I ペプチド含有乳清の製造法では、攪拌下における発酵を伴って発酵乳を得る工程と、得られた発酵乳を遠心分離及び／又は圧搾濾過して乳清を分離回収する工程を含むので、ACE I ペプチドを高い割合で含む乳清を効率的に回収することができる。従って、本発明のこれらの方法を利用することにより、ACE I ペプチドを含む製品を容易に製造することができ、工業的にも極めて有効である。

実施例

以下実施例及び比較例により、本発明を更に詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

比較例 1

脱脂粉乳(よつ葉乳業(株)製) 900 g を水 9100 g に溶解し、90℃で1分間HTST (High Temperature Short Time) 殺菌した。その後、室温まで冷却して予め前培養しておいたラクトバチルス・ヘルベティカスCM4株を300 g 接種し、均一になるように攪拌した。次いで、34℃、25時間静置発酵させ、乳酸酸度が2.06質量%のゲル状組織が連続状態にある発酵乳カードaを得た。

次に、得られた発酵乳カードaを攪拌した後、遠心分離機(日立製作所(株)製、20PR52)を用いて、3000 rpm、10分間の条件で、カード画分を遠心分離により除去し、乳清2.5 kgを回収した。

得られた発酵乳カードaについて、下記の条件で粘度及びACE I ペプチド含有量を測定した。結果を表1に示す。また、得られた発酵乳カードaを攪拌した後、粒度分布計((株)堀場製作所製、LA-920)でカード細片の粒度を測定した。その結果、カード細片の90%が直径47 μm以下であり、算術平均径は27 μmであった。

(粘度の測定法)

粘度の測定には、ビスメトロン粘度計(芝浦システム(株)製)を用いた。粘度測定時の液温は25℃、回転数は60 rpmとし、ローター及び測定時間は、中粘度用ローターNo. 2を用いて、測定時間60秒で行なった。

(Val Pro Pro 及び Ile Pro Pro 含有量の測定法)

発酵乳カード a 約 1 ml をそのまま 15000 rpm で 10 分間実験用遠心分離機にて上清を回収する。得られる上清 0.3 ml を Sep-Pak Cartridge (ウォーターズ社製) に吸着させ、蒸留水で洗浄する。メタノール 5 ml にて溶出し、遠心処理下で減圧乾燥する。乾燥物を 0.3 ml の 0.05% Trifluoroacetic acid 水溶液に溶解し高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により分析する。

HPLC による分析条件

使用機種：日立 L4000 UV デテクター (215 nm 検出)

L6200 インテリジェントポンプ

L5030 カラムオーブン (35°C)

分離条件：流速 0.5 ml/min

溶離液：0.3M NaCl, 0.05% Trifluoroacetic acid 水溶液

カラム：Asahipak GS320 (Φ 3.9 × 600 mm)

ACEI ペプチド含有量：Val Pro Pro と Ile Pro Pro の ACEI 活性が異なるため、下式にて換算し、ACEI ペプチド含有量とした。

ACEI ペプチド含有量 (mg/100g) = IPP 量 (mg/100g) × 1.7 + VPP 量 (mg/100g)

実施例 1

脱脂粉乳 (よつ葉乳業 (株) 製) 900 g を、水 9100 g に溶解し、90°C で 1 分間 HTST 殺菌した。その後、室温まで冷却して予め前培養しておいたラクトバチルス・ヘルベティカス CM4 株を 300 g 接種し、均一撹拌した。次いで、34°C で撹拌速度 50 rpm にて撹拌しながら 29 時間発酵させ、乳酸酸度が 1.88 質量% の発酵乳 b を得た。得られた発酵乳 b のカード細片について、粒度分布計 ((株) 堀場製作所製、LA-920) で粒度を測定した。その結果、カード細片の 90% が直径 30 μm 以下であり、算術平均径は 18 μm であった。

次に、得られた発酵乳 b を遠心分離機 (日立製作所 (株) 製、20PR52) を用いて、3000 rpm、10 分間の条件で、カード画分を遠心分離により除去し、乳清 6 kg を回収した。

得られた発酵乳 b について、比較例 1 と同様な条件で粘度及び ACEI ペプチ

10

ド含有量を測定した。結果を表1に示す。但し、粘度測定におけるローター及び測定時間は、低粘度用ローターNo. 1を用いて測定時間30秒で測定した。

比較例2

脱脂粉乳(よつ葉乳業(株)製)1.5kgを、水8.5kgに溶解し90℃で1分間HTST殺菌した。その後、室温まで冷却して予め前培養しておいたラクトバチルス・ヘルベティカスCM4株を300g接種し、均一撹拌した。次いで、34℃で28時間静置発酵させ、乳酸酸度が2.81質量%のゲル状組織が連続状態にある発酵乳カードcを得た。次に得られた発酵乳カードcを撹拌した後、遠心分離機(日立製作所(株)製、20PR52)を用いて3000rpm、10分間の条件でカード画分を遠心分離により除去し乳清100gを回収した。

得られた発酵乳カードcについて、比較例1と同様な条件で粘度及びACEIペプチド含有量を測定した。結果を表1に示す。但し、粘度測定におけるローター及び測定時間は、高粘度用ローターNo. 3を用いて測定時間60秒で測定した。下記の条件で粘度及びACEIペプチド含有量を測定した。

実施例2

脱脂粉乳(よつ葉乳業(株)製)1.5kgを、水8.5kgに溶解し、90℃で1分間HTST殺菌した。その後、室温まで冷却して予め前培養しておいたラクトバチルス・ヘルベティカスCM4株を300g接種し、均一撹拌した。次いで、34℃で撹拌速度50rpmにて撹拌しながら30時間発酵させ、乳酸酸度が3.04質量%の発酵乳dを得た。

次に、得られた発酵乳dを連続遠心分離機(日立製作所(株)製、20PR52)を用いて、3000rpm、10分間の条件で、カード画分を遠心分離により除去し、乳清6.4kgを回収した。

得られた発酵乳dについて、比較例1と同様な条件で粘度及びACEIペプチド含有量を測定した。結果を表1に示す。但し、粘度測定におけるローター及び測定時間は、低粘度用ローターNo. 1を用いて測定時間30秒で測定した。

実施例3

脱脂粉乳(よつ葉乳業(株)製)712kgを、水7288kgに溶解し、92℃

11

でプレート殺菌して、タンク(岩井機械製18000Lタンク)に導入した。その後、35℃まで冷却して予め前培養しておいたラクトバチルス・ヘルベティカスCM4株スターターを240kg接種し、均一撹拌した。次いで、断続的な撹拌(15分間撹拌後、45分間静置させる発酵の繰返し)を行いながら、32℃で27時間発酵させた。このような発酵により、乳酸酸度が1.8質量%の発酵乳eを得た。得られた発酵乳eのカード細片について、粒度分布計((株)堀場製作所製、LA-920)で粒度を測定した。その結果、カード細片の90%が直径172μm以下であり、算術平均径は86μmであった。

次に、得られた発酵乳eをノズルセパレータ式遠心分離機(アルファラバル社製、MBUX510T-34C、ノズルサイズ1mm、流量3500L/時間、回転数7490rpm)を用いて、乳清6160kgを回収した。

得られた発酵乳eについて、比較例1と同様な条件で粘度及びACEIペプチド含有量を測定した。結果を表1に示す。但し、粘度測定におけるローター及び測定時間は、低粘度用ローターNo. 1を用いて測定時間30秒で測定した。

表1

発酵乳	粘度 (cP)	乳清回収率 (%)	ACEIペプチド 含有量(mg/100g)
発酵乳a(比較例1)	415	25	7.1
発酵乳b(実施例1)	4.5	60	9.0
発酵乳c(比較例2)	1832	1	10.5
発酵乳d(実施例2)	8.1	64	10.8
発酵乳e(実施例3)	3.8	77	8.6

1 2

請求の範囲

- 1) (A) 乳酸菌と乳を含む原料とを混合攪拌し混合原料を得る工程と、
(B-1) カード細片と、アンジオテンシン変換酵素阻害ペプチドを含む乳清とを生成させるように前記混合原料を攪拌下で発酵させる工程とを含み、
カード細片と、アンジオテンシン変換酵素阻害ペプチドを含む乳清とを含有する発酵乳を調製するアンジオテンシン変換酵素阻害ペプチド含有発酵乳の製造法。
- 2) (A) 乳酸菌と乳を含む原料とを混合攪拌し混合原料を得る工程と、
(B-1) カード細片と、アンジオテンシン変換酵素阻害ペプチドを含む乳清とを生成させるように前記混合原料を攪拌下で発酵させる工程と、
(B-2) 前記混合原料を静置下で発酵させる工程とを含み、
カード細片と、アンジオテンシン変換酵素阻害ペプチドを含む乳清とを含有する発酵乳を調製するアンジオテンシン変換酵素阻害ペプチド含有発酵乳の製造法。
- 3) 乳が、牛乳、山羊乳、羊乳、豆乳、脱脂乳、還元乳、粉乳、コンデンスミルク及びこれらの混合物からなる群より選択される請求の範囲 1 又は 2 に記載の製造法。
- 4) 得られる発酵乳の粘度が、20 cP 以下である請求の範囲 1 又は 2 に記載の製造法。
- 5) アンジオテンシン変換酵素阻害ペプチドが、Val Pro Pro、Ile Pro Pro 及びこれらの混合物からなる群より選択される請求の範囲 1 又は 2 に記載の製造法。
- 6) 前記混合原料が、更に、酵母を含むことを特徴とする請求の範囲 1 又は 2 に記載の製造法。
- 7) 前記混合原料に含まれる乳酸菌が、ラクトバチルス・ヘルベチカス (*Lactobacillus helveticus*) を含む請求の範囲 1 又は 2 に記載の製造法。
- 8) ラクトバチルス・ヘルベチカスが、ラクトバチルス・ヘルベチカス CM4 株 (工業技術院生命工学工業技術研究所 寄託番号: FERM BP-6060, 寄託日 1997. 8. 15) を含む請求の範囲 7 に記載の製造法。

- 9) 請求の範囲 1 又は 2 により製造した発酵乳を、遠心分離及び圧搾濾過の少なくとも一方の操作を行なって乳清を分離回収する ACE I ペプチド含有乳清の製造法が提供される。

THIS PAGE BLANK (USPTO)